

(19)日本国特許庁 (JP)

(12) 公表特許公報 (A)

(11)特許出願公表番号

特表平8-508047

(43) 公表日 平成8年(1996)8月27日

|                           |       |         |               |       |
|---------------------------|-------|---------|---------------|-------|
| (51) Int.Cl. <sup>6</sup> | 識別記号  | 序内整理番号  | F I           |       |
| A 6 1 K 35/14             |       | 7431-4C | A 6 1 K 35/14 | Z     |
| A 0 1 N 1/02              |       | 9450-4H | A 0 1 N 1/02  |       |
| A 6 1 K 38/00             |       | 7421-4C | A 6 1 M 1/36  | 5 3 0 |
| A 6 1 M 1/36              | 5 3 0 | 9344-4D | B 0 1 D 15/08 |       |
| B 0 1 D 15/08             |       | 9538-4D | 61/00         |       |

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求(全 35 頁) 最終頁に統ぐ

|              |   |
|--------------|---|
| (21)出願番号     | 特願平7-516870   |
| (86) (22)出願日 | 平成6年(1994)12月9日   |
| (85)翻訳文提出日   | 平成7年(1995)8月16日   |
| (86)国際出願番号   | PCT/US94/14227  |
| (87)国際公開番号   | WO95/16348  |
| (87)国際公開日    | 平成7年(1995)6月22日   |
| (31)優先権主張番号  | 08/168,438  |
| (32)優先日      | 1993年12月17日   |
| (33)優先権主張国   | 米国(US)  |
| (81)指定国      | EP(AT, BE, CH, DE,<br>DK, ES, FR, GB, GR, IE, IT, LU, M<br>C, NL, PT, SE), AU, BR, CA, CN, J<br>P |

(71)出願人 バクスター、インターナショナル、インコ  
ーポレイテッド  
アメリカ合衆国60015、イリノイ、ディヤ  
フィールド、バクスターパークウェイ1

(72)発明者 フォリー、ジョン、ティー  
アメリカ合衆国60090イリノイ、ホィーリ  
ング、サウスナバホトレイル 494

(72)発明者 チャップマン、ジョン  
アメリカ合衆国60046イリノイ、レイクビ  
ラ、ケビンアベニュー 67

(72)発明者 ウォルフ、ルードヴィッヒ、ジュニア  
アメリカ合衆国60010イリノイ、インバー  
ネス、カーウォール 1417

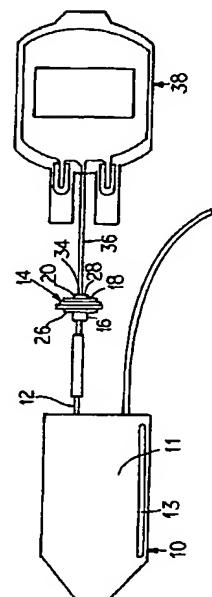
(74)代理人 弁理士 赤岡 迪夫 (外1名)

(54) 【発明の名称】 体液を処理するための方法及び装置

(57) **【要約】**

存在しているかも知れないウイルス性汚染を少なくとも実質的に不活性化するために体液を処理するための方法であって、体液を準備するステップと、該体液にウイルス不活性化剤を添加して結果の製品を作り出すステップと、該結果の製品を該ウイルス不活性化剤に対して親和性を有する材料を含んだカラムに通すステップと、を含む方法。

1



## 【特許請求の範囲】

1. 含まれているかも知れないウイルス性汚染を少なくとも実質的に不活性化するために体液を処理するための方法であって、  
体液を準備するステップと、  
該体液にウイルス不活性化剤を添加して結果の製品を作り出すステップと、  
該結果の製品を該ウイルス不活性化剤に対して親和性を有する材料を含んだカラムに通すステップと、  
を含む方法。
  2. 該材料が活性炭を含むものである、請求項1の方法。
  3. 該カラムがイオン交換カラムである、請求項1の方法。
  4. 該材料がバイオビーズを含むものである、請求項1の方法。
  5. 該ウイルス不活性化剤が光活性化剤である、請求項1の方法。
  6. 該ウイルス不活性化剤が、ポルフィリン類、ソラレン類、フタロシアニン類、フェノチアジン類、ヒペリシン類、及び染料よりなる群より選ばれるものである、請求項1の方法。
  7. 該体液が血液製品である、請求項1の方法。
  8. 該材料が該ウイルス不活性化剤の誘導体に対して親和性を有するものである、請求項1の方法。
  9. 該バイオビーズが、  
極性については、無極性乃至中等度の極性であり、  
双極子モーメントが0.1～3.0であり、  
ビーズサイズが30～2000であり、  
平均ポア直径が45～300オングストロームであり、そして  
ビーズ表面積が、乾燥ビーズについて $15\sim1600\text{m}^2/\text{g}$ である、  
なる特徴を有するものである、請求項4の方法。
10. 血液製品を処理するための方法であって、  
血液製品を準備するステップと、  
該血液製品に光感受性物質を添加するステップと、

該光感受性物質に該光感受性物質を活性化するに十分な波長の光を照射する  
ステップと、

該血液製品を該光感受性物質に対して親和性を有するカラムに通すステップ  
と、そして

該カラムを通過した血液製品を収集するステップと、  
を含む方法。

11. 該カラムが活性炭を含むものである、請求項10の方法。
12. 該カラムがイオン交換カラムである、請求項10の方法。
13. 該カラムがバイオビーズを含むものである、請求項10の方法。
14. 該光感受性物質が、ポルフィリン類、ソラレン類、フタロシアニン類、フ  
エノチアジン類、ヒペリシン及び色素なる群より選ばれるものである、請求項10  
の方法。
15. 該血液製品が患者に投与されるものである、請求項10の方法。
16. 該血液製品が血小板を含み且つ該光感受性物質がソラレンである、請求項  
10の方法。
  
17. 該血液製品が血漿を含み、該光感受性物質がメチレンブルーである、請求  
項10の方法。
18. 該カラムが該光感受性物質の照射によって產生される光生成物に対する親  
和性をも有するものである、請求項10の方法。
19. 該光感受性物質が、該カラムとは別の容器中の血液製品に加えられるもの  
である、請求項10の方法。
20. 実質的に全ての血液製品が該カラムを通過するものである、請求項10の方  
法。
21. 血液製品を患者に供給するための方法であって、  
供血者から血液製品を収集するステップと、  
該血液製品に光活性化するウイルス不活性化剤を添加するステップと、  
該血液製品及び光活性化するウイルス不活性化剤に該ウイルス不活性化剤を  
活性化するのに十分波長の光を照射して結果の製品を作り出すステップと、

該ウイルス不活性化剤に対する親和性を有するカラムに該結果の製品を通す  
ステップと、

該カラムを通過した該結果の血液製品を収集するステップと、  
そして

該結果の血液製品を患者に投与するステップと、  
を含む方法。

22. 該カラムが活性炭を含むものである、請求項21の方法。
23. 該カラムがイオン交換カラムである、請求項21の方法。
24. 該カラムがバイオビーズを含むものである、請求項21の方法。

)

25. 該ウイルス不活性化剤が、ポルフィリン類、ソラレン類、フタロシアニン類、フェノチアジン類、ヒペリシン及び染料よりなる群より選ばれるものである、請求項21の方法。
26. 該血液製品が血小板を含み、該ウイルス不活性化剤がソラレンである、請求項21の方法。
27. 該血液製品が血漿を含み、該ウイルス不活性化剤がメチレンブルーを含むものである、請求項21の方法。
28. 該カラムが、該結果の製品の照射によって產生される光生成物に対しても親和性を有するものである、請求項21の方法。

)

29. 該ウイルス不活性化剤が、該カラムとは別の容器中の該血液製品に加えられるものである、請求項21の方法。
30. 実質的に全ての血液製品が該カラムを通過するものである、請求項21の方法。

## 【発明の詳細な説明】

## 体液を処理するための方法及び装置

## 発明の背景

本発明は、一般的には、体液の収集及び治療上の使用に関する。より具体的には、本発明は、血液のような体液中のウイルス性汚染その他の病原体を実質的に減少させ又は除去することを試みるための方法及び装置に関する。

勿論、輸血及び移植のような広範な種々の治療において、体液特に、赤血球、血小板、血漿及び骨髄等のような血液成分が、一人又

はより多くの個体から患者へ注入される。そのような療法——それらの多くは救命的であり他の方法では提供できない——は治療を提供はするものの、感染性疾患の伝染のためにそのような治療には潜在的危険性がある。

例えば、血液は、肝炎ウイルス、ヒト免疫不全症ウイルス（エイズの病原因子）、サイトメガロウイルス、EBウイルス、及びヘルペスウイルス等のような感染性因子を担持し得ることが知られている。そのようなウイルスを含有するおそれのある血液を同定するためのスクリーニング法が存在するが、現行のスクリーニング法は、そのようなウイルスを含有する各々の血液単位を同定することを保証はしない。

例えば、この点、HIV等のようなウイルス性汚染についての血液成分の試験における困難の一つは、現行の診断試験の多くが抗体の同定に基づいていることである。従って、それらは、その血液が

そのウイルスに対する抗体、例えば抗HIV抗体を含む場合にしか陽性試験結果を示さない。しかしながら細胞内ウイルス感染では、個体は、感染後直ちに抗体を産生はしない。寧ろ、ウイルスへの患者の最初の感染から抗体の産生までにわたる「ウインドウ期間」がある。個体がこのウインドウ期間にあるときは、抗体に基づく診断試験は、該個体又は血液単位が感染しているとは同定しないであろう。しかしながら、抗体が存在しないといえども、その血液単位はやはり感染を伝達しうる。

このウインドウ期間は、HIV感染に関しては、6週ないし4-8ヶ月にわたるものと信じられている。この期間の間は、HIVに感染し従ってその血液がこれを伝染するであろう個体は、陰性抗体反応を示すであろう。現行のスクリーニング試験は、HIVに感染しているが抗HIVを産生していない個体からの血液単位をウイルスに汚染されているとは同定しないであろう。

現行の診断技術の限界に対処するために、そしてまた輸血を受ける患者へのウイルス汚染その他の病原体の伝染という懸念を取り扱うために、最近の試みは、ウイルス不活性化剤の開発に焦点を当ててきた。これらのウイルス不活性化剤は、体液が患者に投与される前に該体液に添加されるであろうと予測される。

例えば、抗ウイルス作用を有する多くの光活性剤が開発されてきた。これらの光活性剤は、一般に、光によって活性化されたとき病原体、例えば存在しているかも知れないウイルスを不活性化又は破壊する薬剤である。そのような光活性剤としては、ソラレン類 (psoralens)、ポルフィリン類、フタロシニン類、及び、メチレンブルーのような染料が含まれる。例えば米国特許第4,748,120号、4,8

7

8,891号、5,120,649号、及びドイツ特許出願DE 3930510 A1 (Mohr) を参照のこと。

そのような薬剤はウイルス汚染の懸念を払拭するための体液の処置に有望であるものの、規制上の並びにそのような薬剤に関する、可能性のある他の懸念があるであろう。勿論、抗ウイルス剤の添加された結果の体液は患者へ注入されるであろう。従って、該薬剤が毒性問題その他の *in vivo* 上の懸念を引き起こすものでないことが必須である。

光活性化剤に関しては、更なる問題は、該薬剤が活性化し該薬剤がウイルスと相互作用したとき、他の生成物が産生され得るということである。例えば、メチレンブルーは、血漿中のウイルス性汚染を不活性化するのに有効性を有することの示されている光活性剤である。メチレンブルーは、徹底的な試験を通じて、毒性の問題がないことが示されているものの、メチレンブルーが光活性化すると、光生成物が産生される。特に、アズール (Azure) A 及び B が、メチレンブルー

の光活性化により產生される。これらの生成物の *in vivo* での効果は、患者におけるメチレンブルー程には十分には研究されておらず、従ってそれらは規制上の問題及び *in vivo* 上の懸念を引き起す。

従って、中に含まれているかも知れないウイルス汚染をたとえ除去しないまでも実質的に減少させるために体液を処理するための、改良された方法及びシステムに対する需要がある。

#### 発明の要約

本発明は、含まれているかも知れないウイルス性汚染を実質的に不活性化するために体液を処理する方法を提供する。該方法によれ

ば、体液にウイルス不活性化剤が添加される。得られた製品は、次いで容器、例えばウイルス不活性化剤に対する親和性を有する材料を含んだカラムに通される。これは、該カラムが過剰のウイルス不活性化剤を除去することを許容する。加えて、他の製品、例えばウイルス不活性化剤の添加又はその活性化によって產生されたかもしれない光生成物もまた除去される。体液は、次いで、規制上の及び毒性の懸念なく患者へ投与できる。

この目的のため、一具体例においては、本発明は、存在しているかも知れないウイルス性汚染を少なくとも実質的に不活性化するために体液を処理するための方法であって、体液を準備するステップと、該体液にウイルス不活性化剤を添加してその結果の製品を作り出すステップと、該結果の製品を該ウイルス不活性化剤に対する親和性を有する材料を含んだカラムに通すステップと、を含んだ方法を提供する。

一具体例においては、該材料は活性炭を含む。

一具体例においては、該カラムはイオン交換カラムである。

一具体例においては、該材料は、水溶液から有機物を吸収するための大きな表面積を有する中性の大多孔性のポリマー性ビーズを含む。

一具体例においては、該ウイルス不活性化剤は、光活性化剤である。

一具体例においては、該ウイルス不活性化剤は、ポルフィリン類、ソラレン類、フタロシアニン類、及び染料よりなる群より選ばれる。

本発明は、また、血液製品を処理するための方法であって、血液

製品を準備するステップと、該血液製品に光活性化ウイルス不活性化剤を添加して結果の製品を作り出すステップと、該結果の製品に該ウイルス不活性化剤を活性化させるのに十分な波長の光を照射して更なる製品を作り出すステップと、該更なる製品を該ウイルス不活性化剤に対して親和性を有するカラムに通すステップと、そして該カラムを通過した製品を収集するステップと、を含む方法を提供する。

一具体例においては、該血液製品は血小板を含み、該ウイルス不活性化剤はソラレンである。)

一具体例においては、該血液製品は血漿を含み、該ウイルス不活性化剤はメチレンブルーを含む。

一具体例においては、該カラムはまた該結果の製品を照射することによって生ずる光生成物に対しても親和性を有する。

本発明はまた、血液製品を患者に提供するための方法であって、供血者から血液製品を収集するステップと、該血液製品に光活性化ウイルス不活性化剤を添加するステップと、該血液製品と光活性化ウイルス不活性化剤に該ウイルス不活性化剤を活性化させるに十分な波長の光を照射して結果の製品を作り出すステップと、該結果の製品を該ウイルス不活性化剤に対して親和性を有するカラムに通すステップと、該カラムを通過した結果の血液製品を収集するステップと、そして該結果の血液製品を患者に投与するステップと、を含む方法を提供する。)

本発明の利点は、存在しているかも知れないウイルス性汚染を少なくとも実質的に不活性化するために体液を処理するための改良された方法を提供することである。

本発明の別の一利点は、血液又はその成分から、それらが患者に注入される前に病原体を不活性化又は除去するための方法を提供することである。

更には、本発明の一利点は、体液に、それが患者に注入される前にウイルス不活性化剤を添加することを許容し且つ毒性の又は規制上の懸念を払拭するシステ

ムを提供することである。

尚も更には、本発明の一利点は、体液に光活性化剤を添加するシステムから光生成物を除去するための方法を提供することである。

更には、本発明の一利点は、過剰の光活性化剤の如何なる解凍後光活性化をも防止ことである。

本発明の別の一利点は、処理された血漿に正常の血漿の色を許容することである。

本発明の更なる特徴及び利点は、現在好ましい具体例についての詳細な記述中に記述されており、およびこれと図面とから明らかであろう。

#### 図面の簡単な記述

図1は、本発明のシステムの一具体例を概念的に図解する。

図2は、実施例3の結果を、そして特に参照血漿中の、解凍後の、処理前の、処理後の、及び除去後のフィブリノーゲン含量をグラフで示す。

図3は、実施例3の結果を、そして特に参照血漿中の、解凍後の処理前の、処理後の、そして除去後の第V因子の含量をグラフで示す。

図4は、実施例3の結果を、そして特に参照血漿中の、解凍後の

処理前の、処理後の、そして除去後の第VII因子の含量をグラフで示す。

図5は、実施例3の結果を、そして特に参照血漿中の、解凍後の処理前の、処理後の、そして除去後の第VIII:C因子の含量をグラフで示す。

図6は、実施例3の結果を、そして特に参照血漿中の、解凍後の処理前の、処理後の、そして除去後の第IX因子の含量をグラフで示す。

図7は、実施例3の結果を、そして特に参照血漿中の、解凍後の処理前の、処理後の、そして除去後の第XI因子の含量をグラフで示す。

図8は、実施例3の結果を、そして特に参照血漿中の、解凍後の処理前の、処理後の、そして除去後のプロトロンビンの含量をグラフで示す。

図9は、実施例3の結果を、そして特に参照血漿中の、解凍後の処理前の、処理後の、そして除去後の活性化部分トロンボプラスチン時間をグラフで示す。

#### 現在好ましい具体例の詳細な記述

本発明は、存在しているかもしれないウイルス性汚染を減少させ又は除去するために血液等のような体液を処理する際に使用するための、方法及び装置を提供する。本発明は種々のウイルス不活性化剤に使用できると信じられる。そのような薬剤としては、ソラレン類、ポルフィリン類、メチレンブルーのような染料、フタロシアニン類、フェノチアジン類、ヒペリシン(hypericin)その他の光により活性化される化合物が含まれるか、これらに限定はされない。

当該分野において示唆されているように、光活性のウイルス不活性化剤は、血液等のような体液に、該血液が患者に注入されるのに先立って加えられる。結果の血液製品は、光活性化剤を含み、次いで適当な波長の光の照射を受ける。勿論、望むならば、光による活性化に基づかない他のウイルス不活性化剤を、本発明において用いることができる。

本発明によれば、図1に図解されているように、容器10は、例えば血液成分11を含んで提供される。該血液成分には、ウイルス不活性化剤13が加えられている。

例えば、全血を血液パック内に収集することが知られている。典型的には、全血は次いでその構成部分に分離される。Baxter Inter

)  
nationalによって販売されているOptipress®システムのようなシステムを用いて血液がそれぞれの成分に分離された後、該血液成分は、ウイルス不活性化剤を含んだ容器10に加えられることができる。例えば、メチレンブルーを血漿成分に加えることができる。勿論、望むならば、全血をウイルス不活性化剤で処理することができる。同様に、望むならば、別の容器は必要でなく、ウイルス不活性化剤は、該成分が貯蔵される容器に加えることができる。

容器10は、カラム14に繋げられる液体ライン12を含むであろう。ここで用いられるものとして、「カラム」は、広く、特定の化合物又は物質を除去する材料を含んだチャンバー又は装置をいう。従って、「カラム」は、カートリッジ、容器その他のそのような材料を収容する手段を含む。

本発明によれば、カラム14は、ウイルス不活性化剤及びそれによって生じた

光生成物に対して親和性を有する材料を含む。カラム

は、ハウジング 20 によって規定されている内部 18 内へ製品が流入するのを許容する入口 16 を含む。一具体例においては、多孔性のプレート（図解せず）が、ハウジング 20 の内部 18 の両端 26 及び 28 にそれぞれ配置されている。該多孔性プレートは、中に配置された親和性マトリックスを通って体液が流れることを許容する。結果の製品は、次いで、出口 34 を通ってカートリッジ 14 から流出する。

使用においては、血液製品及びウイルス不活性化剤を収容した容器が適當な波長の光により活性化された後、結果の製品が液体ライン 12 を取って親和性カラム 14 に流入する。親和性カラム 14 は、過剰のウイルス不活性化剤並びに光生成物を除去する。例えば、メチレンブルーの場合、過剰のメチレンブルー並びにアズール A 及び B が除去される。結果の血液製品が、次いで、液体ライン 36 を通って容器 38 へ流れる。血液は容器 38 内に貯蔵でき、そして患者に注入される。

液体ライン 12 を通る選択的流れを許容するために、当該分野において既知の壊すことのできるカニューレを備えることができる。勿論、液体ライン 12 を通る選択的流れを許容するための他の手段を備えることもできる。

該図解されている具体例においてはカートリッジ 14 は容器 10 から離れた別個の要素であるが、一体の構造を提供することもできる。この点、カラムは、容器と一体でも又は該容器の出口ポートとして結合しているものであってもよい。

親和性カラム 14 内のマトリックに使用される材料は、種々の材料を含むものであることができる。例えば、活性炭、イオン交換

樹脂、又はバイオビーズ等を使用することができる。ここで用いられるものとして、「バイオビーズ」は、水溶液から有機物を吸収するための大きな表面積を有する中性の大多孔性ポリマー性ビーズをいう。バイオビーズは、親水性の及び疎水性の極性において様々なものであることができる。本発明のためのバイオビーズの有用な性質と信じられる範囲は、次のとおりである： 極性（無極性から中

等度の極性)、双極子モーメント(0.1乃至3.0)、ビーズサイズ(30乃至2000 $\mu$ m)、平均ポア直径(45乃至300オングストローム)、ビーズ表面積(150乃至1600m<sup>2</sup>/g乾燥ビーズ)。Biorad Laboratories(2000 Alfred Nobel Drive, Hercules, CA 94547)

よりMacro-Prep®-t-butyl HICの名で入手可能なバイオビーズが、メチレンブルー及びメチレンブルーの光生成物であるアズールA及びBを除去するのに満足に機能することが見いだされた。

例として、そして限定としてでなく、本発明の実施例が今や示されよう。

#### 実施例 1

除去試験を、4'-アミノメチル-4, 5', 8-トリメチルソラレン(AMT)について行った。特に、3種の試験を行い、2つは活性炭カラムを用い、1つはイオン交換カラムを用いた。活性炭カラムは、市販の浄水器より得られる活性炭を各々5.3g含んだ。イオン交換カラムは、8.2g未満のBiorad AG 50W-X8陽イオン交換樹脂よりなるものであった。

40 $\mu$ g/m1のAMTを含有する1単位(80m1)の血漿中分散血小板を、30m1/分の速度で第1の活性炭フィルターに通した。このカラムは、HPLCにより測定したところによると、86%のAMTを除去した。

MTを除去した。カラムを通した血小板の損失は6%であった。総タンパク質は、33%だけ減少した。血小板の形態学的スコアは、355から315へと低下した。

第2の活性炭カラムを、約5m1/分の流速で試験した。このカラムは、HPLCで測定したところによれば、「100%」のAMTを除去した。血小板の損失は14%であった。総タンパク質は14%増加した。血小板の形態学的スコアは、カラムによっては変化しなかった(200)。

これらのデータから、活性炭は、相当な量のAMT薬物を除去できることが明らかである。この除去は、流速に反比例する。活性炭はまた、血漿タンパク質の約3分の1及び血小板の6~7%を除去するように見える。遅い流速(より高い除去)では、血小板の形態学的スコアが、かなり低下した。活性炭カラムからく

る如何なる「微粒子」も見られなかった。

イオン交換カラムは、相当な量のAMTを低流速において明らかに除去したが、活性炭ほど多くはなかった。このカラムは、如何なる血漿タンパク質も除去しないように見え、血小板損失は活性炭より大きかった。血小板は、このイオン交換樹脂によっては影響を受けないように見えた。

### 実施例2

この実施例においては、バイオビーズ、1つは5.5gの100~200メッシュのバイオビーズであり他は7.5gの20~50メッシュのバイオビーズである、2つの異なるAMT除去試験が行われた。

約 $20\mu\text{g}/\text{ml}$ のAMTを含有する血小板の1単位(50~60ml)(乳酸リン

ゲル中)を、ポンプで流速 $7\text{ml}/\text{分}$ にて各カラムに

通した。両カラムは、全ての測定可能なAMTを除去したが、20~50メッシュカラム材料は、「より清浄な」HPLC出力を与えた。100~200メッシュカラムについての血小板損失は、40%であり、20~50メッシュでは28%であった。総タンパク質は、100~200メッシュカラムでは13%減少し、20~50メッシュカラムでは32%だけ減少した。血小板の形態学は、100~200メッシュのカラムについては、カラムを通して355と一定しており、20~50メッシュのカラムについては、形態は130~115と変化した。20~50メッシュのバイオビーズに用いられた血小板の単位が、低い血小板カウントと、よくない血小板形態とそして低いタンパク質含量を有していたことに、注意しなければならない。これらのカラムは、如何なる「微粒子」も漏らさずビーズを膨潤もさせないように見えた。

バイオビーズは、実施例1において試験した活性炭と同等に良好にAMTを除去した。

### 実施例3

Instacool血漿解凍装置を用いて解凍した新鮮凍結血漿の10単位について、次の方法を実施した。約 $12\text{ml}$ のサンプルを、無処理対照サンプルとして各単位から収集して試験のために各管に入れた。それらの管にプロトコール番号、サンプル文字をラベルし、そして処理はしなかった。これらの単位は、凍結( $-80^\circ\text{C}$ ±

10°C) して分析まで貯蔵した。

#### 処理サンプル

Instacool 血漿解凍装置を用いて解凍した 10 単位の新鮮凍結血漿について次の手順を行った。約 12 m l の無処理のサンプルを各単位から除去し、部分量とし、凍結貯蔵 (-80°C ± 10°C) した。各単位

を、メチレンブルーを収容した容器に無菌的に接続して加えた。これらの単位は、K-T とラベルした。メチレンブルー処理バッグ (PL 732) の各々を、アルミホイルで包み、室温にて回転機 (Scientific Products Multipurpose rotator Model 151) に設置し、40~60 r p m の速度で回して 60 分間回して混合した。混合後、照射まで各単位をアルミホイル中で室温にて保持した。

約 16 m l の処理前サンプルを各単位から除去して、メチレンブルー試験のために 4 m l の部分量に分割した。該血漿単位の照射に先立って、照射箱によって放出される光出力を測定した。該光出力を記録した。該メチレンブルー血漿混合物を LED 光源で照射した。該 LED 光源を、60 r p m の速度の水平な回転機の最上部に配置した。全ての単位を赤色光により、8 J / cm<sup>2</sup> で照射した。開始及び停止の時間を記録した。

約 16 m l の処理後サンプルを各ユニットから除去し、メチレンブルー試験のために 4 m l の部分量に分割した。各血漿単位中の残りの血漿を図 1 の除去セット中のメチレンブルー除去カートリッジに、血漿圧搾器により、通した。該除去カートリッジは、Biorad Lab

atories から Macro-Prep® t-butyl HIC の名で入手可能なバイオビーズを含んでいた。約 16 m l の除去後サンプルを、無菌的に各単位から除去し、メチレンブルー試験のために 4 m l の部分量に分割した。

次のデータが得られた。図 2~9 は、このデータをグラフで図解している。

メチレンブルー(MB) ( $\mu\text{g}/\text{ml}$ )

| 試験 | サンプル | 1uM=.374 $\mu\text{g}/\text{ml}$ |       | 処理後   | 除去後 |
|----|------|----------------------------------|-------|-------|-----|
|    |      | 無処理                              | 処理前   |       |     |
| MB | K    | NT                               | 0.308 | 0.39  | NRQ |
| MB | L    | NT                               | 0.316 | 0.365 | NRQ |
| MB | M    | NT                               | 0.409 | 0.363 | NRQ |
| MB | N    | NT                               | 0.368 | 0.329 | NRQ |
| MB | O    | NT                               | 0.419 | 0.353 | NRQ |
| MB | P    | NT                               | 0.401 | 0.348 | NRQ |
| MB | Q    | NT                               | 0.422 | 0.306 | NRQ |
| MB | R    | NT                               | 0.426 | 0.409 | NRQ |
| MB | S    | NT                               | 0.43  | 0.344 | NRQ |
| MB | T    | NT                               | 0.292 | 0.384 | NRQ |

\* NRQ = 回収できる量なし

## プロトロンビン時間

| 試験   | サンプル | 無処理   | 処理前   | 処理後   | 除去後   |
|------|------|-------|-------|-------|-------|
| PT   | K    | 12    | 12    | 12.2  | 13.8  |
| PT   | L    | 11.9  | 11.8  | 12.4  | 11.9  |
| PT   | M    | 12.2  | 12.5  | 13.0  | 13.7  |
| PT   | N    | 11.5  | 11.5  | 11.8  | 11.4  |
| PT   | O    | 12.2  | 12.1  | 15.1  | 12.1  |
| PT   | R    | 13.6  | 12.5  | 13.0  | 12.5  |
| PT   | Q    | 11.7  | 12.1  | 13.8  | 12.1  |
| PT   | R    | 11.6  | 13.2  | 15.8  | 13.7  |
| PT   | S    | 11.6  | 12.1  | 13.8  | 13.2  |
| PT   | T    | 11.7  | 14.2  | 13.1  | 11.8  |
| 平均   |      | 12.02 | 12.4  | 13.51 | 12.62 |
| 標準偏差 |      | 0.603 | 0.782 | 1.249 | 0.900 |

## 活性化部分トロンボプラスチン時間

| 試験   | サンプル | 無処理   | 処理前   | 処理後   | 除去後   |
|------|------|-------|-------|-------|-------|
| APTT | K    | 37.1  | 34.2  | 35.9  | 39    |
| APTT | L    | 26    | 26.6  | 26.9  | 27.3  |
| APTT | M    | 28.6  | 30.4  | 35.7  | 28.4  |
| APTT | N    | 31.7  | 31.1  | 32.3  | 29.7  |
| APTT | O    | 31.2  | 32.5  | 38.9  | 31.3  |
| APTT | P    | 38.9  | 31.8  | 36.3  | 33.6  |
| APTT | Q    | 29.4  | 30.4  | 35.9  | 32.2  |
| APTT | R    | 29.9  | 34.1  | 45.3  | 36.1  |
| APTT | S    | 29.6  | 30.7  | 31.7  | 39.5  |
| APTT | T    | 31.9  | 41.2  | 31.1  | 31.8  |
| 平均   |      | 31.43 | 32.3  | 35    | 32.89 |
| 標準偏差 |      | 3.882 | 3.801 | 4.990 | 4.185 |

## 第IX因子

| 試験    | サンプル | 無處理    | 処理前    | 処理後    | 除去後    |
|-------|------|--------|--------|--------|--------|
| 第IX因子 | K    | 117    | 92     | 94     | 96     |
| 第IX因子 | L    | 100    | 87     | 76     | 87     |
| 第IX因子 | M    | 61     | 59     | 60     | 54     |
| 第IX因子 | N    | 79     | 75     | 81     | 69     |
| 第IX因子 | O    | 68     | 75     | 72     | 65     |
| 第IX因子 | P    | 70     | 63     | 45     | 51     |
| 第IX因子 | Q    | 71     | 87     | 64     | 55     |
| 第IX因子 | R    | 72     | 59     | 70     | 68     |
| 第IX因子 | S    | 88     | 88     | 87     | 71     |
| 第IX因子 | T    | 84     | 82     | 76     | 66     |
|       | 平均   | 81     | 74.7   | 72.5   | 68.2   |
|       | 標準偏差 | 16.964 | 12.338 | 13.986 | 14.227 |

## 第XI因子

| 試験    | サンプル | 無處理    | 処理前    | 処理後    | 除去後    |
|-------|------|--------|--------|--------|--------|
| 第XI因子 | K    | 132    | 118    | 122    | 80     |
| 第XI因子 | L    | 121    | 105    | 96     | 76     |
| 第XI因子 | M    | 118    | 94     | 67     | 44     |
| 第XI因子 | N    | 109    | 104    | 96     | 78     |
| 第XI因子 | O    | 132    | 128    | 126    | 68     |
| 第XI因子 | P    | 77     | 69     | 65     | 43     |
| 第XI因子 | Q    | 102    | 103    | 91     | 54     |
| 第XI因子 | R    | 99     | 78     | 88     | 44     |
| 第XI因子 | S    | 106    | 91     | 95     | 36     |
| 第XI因子 | T    | 87     | 78     | 75     | 39     |
|       | 平均   | 108.3  | 96.8   | 92.1   | 56.2   |
|       | 標準偏差 | 18.087 | 18.564 | 20.431 | 17.492 |

## 第VII因子

| 試験     | サンプル | 無処理    | 処理前    | 処理後    | 除去後    |
|--------|------|--------|--------|--------|--------|
| 第VII因子 | K    | 103    | 95     | 92     | 104    |
| 第VII因子 | L    | 129    | 119    | 119    | 116    |
| 第VII因子 | M    | 63     | 57     | 57     | 61     |
| 第VII因子 | N    | 87     | 84     | 82     | 93     |
| 第VII因子 | O    | 89     | 85     | 89     | 90     |
| 第VII因子 | P    | 59     | 63     | 50     | 60     |
| 第VII因子 | Q    | 86     | 70     | 72     | 80     |
| 第VII因子 | R    | 63     | 55     | 55     | 61     |
| 第VII因子 | S    | 74     | 66     | 64     | 99     |
| 第VII因子 | T    | 92     | 90     | 87     | 95     |
|        | 平均   | 84.5   | 78.4   | 76.7   | 85.9   |
|        | 標準偏差 | 21.324 | 20.001 | 21.250 | 19.723 |

## 第VIII : C因子

| 試験          | サンプル | 無処理    | 処理前    | 処理後    | 除去後    |
|-------------|------|--------|--------|--------|--------|
| 第VIII : C因子 | K    | 47     | 41     | 41     | 44     |
| 第VIII : C因子 | L    | 89     | 88     | 83     | 87     |
| 第VIII : C因子 | M    | 93     | 81     | 81     | 71     |
| 第VIII : C因子 | N    | 56     | 51     | 46     | 46     |
| 第VIII : C因子 | O    | 104    | 101    | 88     | 85     |
| 第VIII : C因子 | P    | 46     | 36     | 39     | 36     |
| 第VIII : C因子 | Q    | 76     | 70     | 54     | 54     |
| 第VIII : C因子 | R    | 53     | 43     | 46     | 44     |
| 第VIII : C因子 | S    | 63     | 55     | 56     | 54     |
| 第VIII : C因子 | T    | 92     | 75     | 62     | 66     |
|             | 平均   | 71.9   | 64.1   | 59.6   | 58.7   |
|             | 標準偏差 | 21.522 | 22.098 | 18.265 | 17.795 |

## フィブリノーゲン

| 試験       | サンプル | 無処理    | 処理前    | 処理後    | 除去後    |
|----------|------|--------|--------|--------|--------|
| フィブリノーゲン | K    | 341    | 290    | 276    | 281    |
| フィブリノーゲン | L    | 308    | 285    | 261    | 248    |
| フィブリノーゲン | M    | 250    | 235    | 204    | 185    |
| フィブリノーゲン | N    | 377    | 345    | 318    | 329    |
| フィブリノーゲン | O    | 285    | 273    | 248    | 252    |
| フィブリノーゲン | P    | 200    | 189    | 149    | 137    |
| フィブリノーゲン | Q    | 308    | 284    | 212    | 214    |
| フィブリノーゲン | R    | 273    | 248    | 223    | 235    |
| フィブリノーゲン | S    | 241    | 244    | 196    | 191    |
| フィブリノーゲン | T    | 299    | 266    | 257    | 255    |
|          | 平均   | 288.2  | 265.9  | 234.4  | 232.7  |
|          | 標準偏差 | 50.861 | 41.162 | 47.664 | 53.994 |

## 第V因子

| 試験   | サンプル | 無処理   | 処理前    | 処理後   | 除去後    |
|------|------|-------|--------|-------|--------|
| 第V因子 | K    | 69    | 65     | 58    | 53     |
| 第V因子 | L    | 84    | 80     | 74    | 77     |
| 第V因子 | M    | 77    | 73     | 69    | 62     |
| 第V因子 | N    | 84    | 79     | 74    | 71     |
| 第V因子 | O    | 63    | 58     | 60    | 54     |
| 第V因子 | P    | 74    | 67     | 62    | 53     |
| 第V因子 | Q    | 71    | 63     | 52    | 49     |
| 第V因子 | R    | 77    | 58     | 65    | 63     |
| 第V因子 | S    | 73    | 62     | 59    | 60     |
| 第V因子 | T    | 53    | 47     | 48    | 43     |
|      | 平均   | 72.5  | 65.2   | 62.1  | 58.5   |
|      | 標準偏差 | 9.384 | 10.130 | 8.634 | 10.244 |

## 対照サンプル

| サンプル  | フィブリノーゲン | 第V因子    | 第VII因子  |
|-------|----------|---------|---------|
| 参照    | 200-400  | 50-150% | 65-135% |
| 範囲    | mg/dl    |         |         |
| A 無処理 | 281      | 82      | 95      |
| B 無処理 | 249      | 114     | 144     |
| C 無処理 | 202      | 79      | 103     |
| D 無処理 | 302      | 62      | 76      |
| E 無処理 | 399      | 87      | 71      |
| F 無処理 | 233      | 96      | 82      |
| G 無処理 | 279      | 93      | 87      |
| H 無処理 | 263      | 58      | 113     |
| I 無処理 | 299      | 60      | 95      |
| J 無処理 | 240      | 111     | 98      |
| 平均    | 274.7    | 84.2    | 94.9    |
| 標準偏差  | 53.614   | 20.077  | 21.584  |

| サンプル  | 第VII : C因子 | 第IX因子   | 第XI因子   |
|-------|------------|---------|---------|
| 参照    | 50-150%    | 60-140% | 65-135% |
| 範囲    |            |         |         |
| A 無処理 | 69         | 83      | 101     |
| B 無処理 | 83         | 115     | 107     |
| C 無処理 | 31         | 86      | 118     |
| D 無処理 | 62         | 79      | 101     |
| E 無処理 | 55         | 90      | 118     |
| F 無処理 | 96         | 97      | 80      |
| G 無処理 | 62         | 118     | 142     |
| H 無処理 | 99         | 85      | 130     |
| I 無処理 | 150        | 94      | 97      |

|        |        |        |        |
|--------|--------|--------|--------|
| J. 無処理 | 83     | 98     | 103    |
| 平均     | 79     | 94.5   | 109.7  |
| 標準偏差   | 32.180 | 13.109 | 17.764 |

| サンプル  | プロトロンビン | APTT  |
|-------|---------|-------|
|       | 時間(秒)   | (秒)   |
| 参照    |         |       |
| 範囲    |         |       |
| A 無処理 | 12.3    | 30.7  |
| B 無処理 | 11.6    | 30.8  |
| C 無処理 | 12      | 31.5  |
| D 無処理 | 12.1    | 31    |
| E 無処理 | 11.7    | 28.4  |
| F 無処理 | 12.4    | 27.1  |
| G 無処理 | 11.7    | 25.1  |
| H 無処理 | 12.5    | 28    |
| I 無処理 | 12.9    | 28.2  |
| J 無処理 | 11.5    | 26.5  |
| 平均    | 12.07   | 28.7  |
| 標準偏差  | 0.455   | 2.179 |

カートリッジを通って流れた後は、4 ng / ml 未満のメチレンブルー及び光生成物しか血液中に存在しなかった。除去前には、該血液単位は400 ng / ml のメチレンブルーを含有していたことに注意しなければならない。例として、2 Lのメチレンブルー処理新鮮凍結血漿の投与を受ける70 kg の人の場合、本発明による除去の後は114 ng / kg のメチレンブルーを投与されることになる。この量は、通常の静脈内臨床投与量の1 / 44000である。このレベルの低下は、如何なる毒性の懸念も効果的に取り除く。

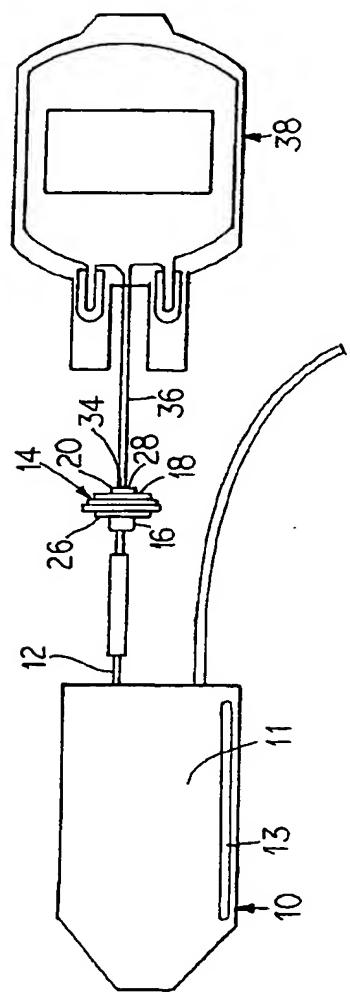
図2～9に図解されているように、第XI因子に関する場合を除き、除去ステップは血漿成分を除去しない。図2～9は、参照血漿、解凍後、処理前、処理後、及び除去後の、特定の成分の含量をグラフで図解している。特に図2～9は、フィブリノーゲン、第V因子、第VII因子、第VII:C因子、第IX因子、第XI因子、プロトロンビンの含量及び活性化部分トロンボプラスチン時間 (APTT) を、

それぞれグラフで図解している。図解されているように、本発明の方法は、輸血すべき血液の治療上の利点を損なうことなく使用することができる。

ここに記述した現在好ましい具体例に対する種々の変更及び修正が当業者に明らかであろうことが、理解されなければならない。そのような変更及び修正は、本発明の精神及び範囲から逸脱することなく且つ伴う利点を損なうことなく行うことができる。従って、そのような変更及び修正は、添付の請求の範囲に包含されることが意図されている。

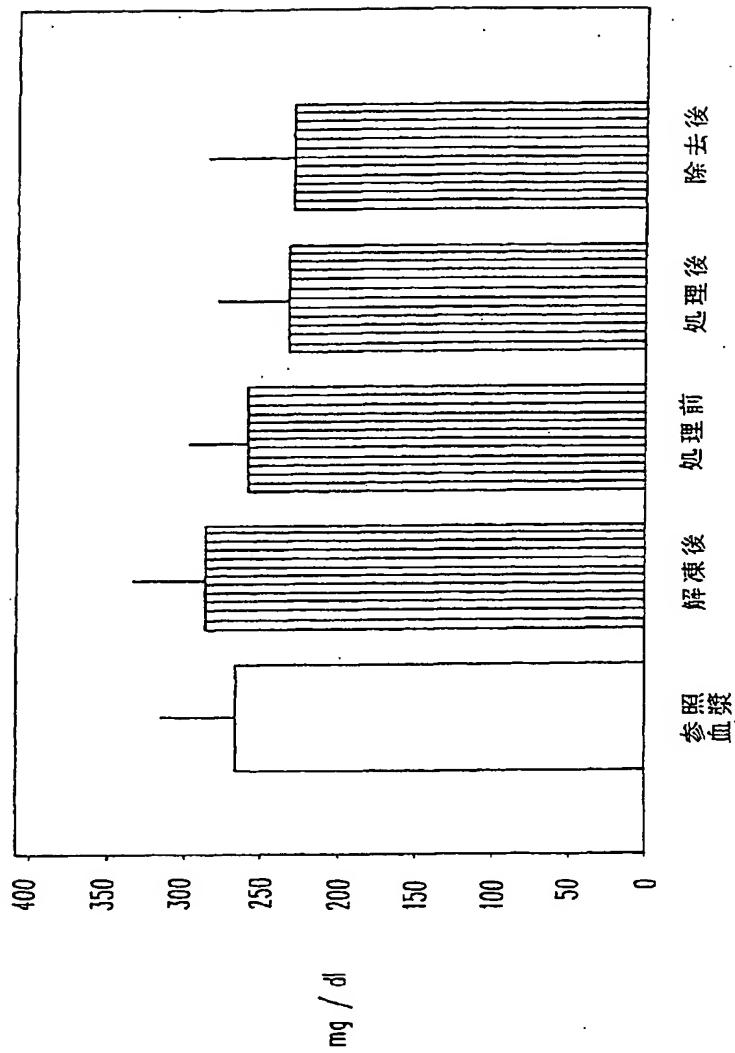
【図 1】

FIG. 1



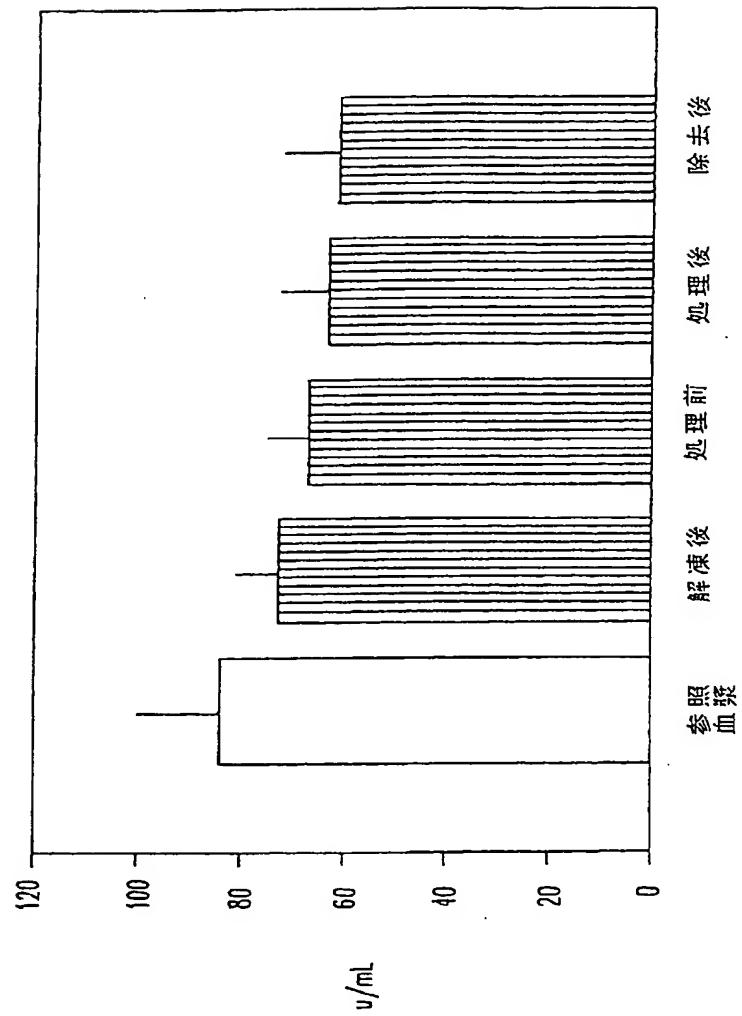
【図 2】

FIG. 2



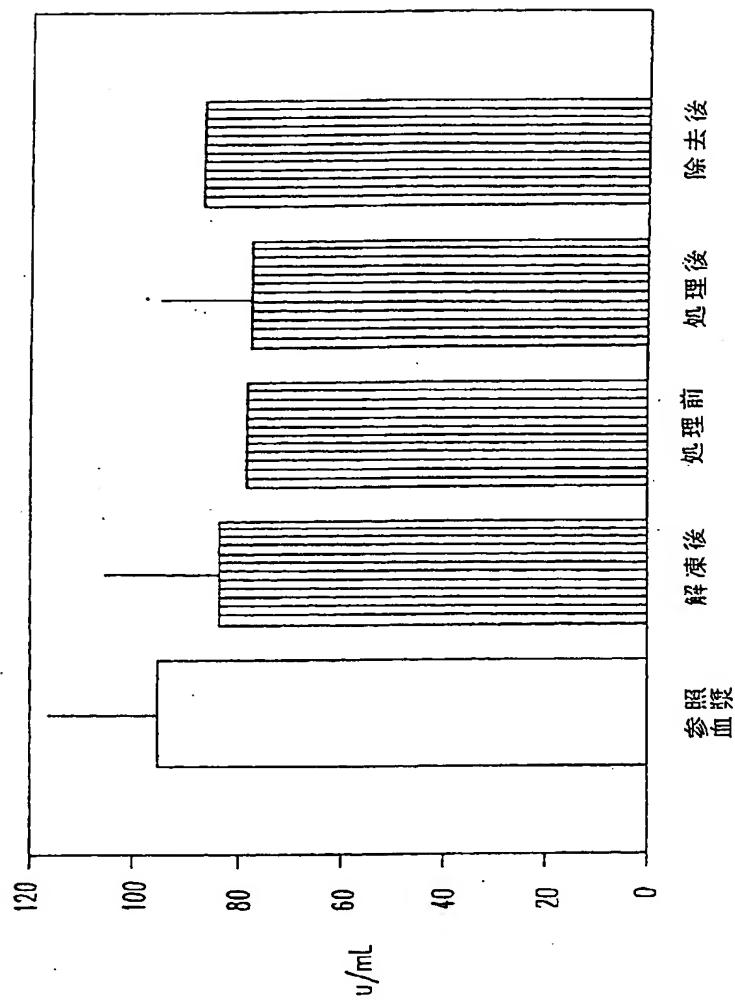
【図 3】

FIG. 3



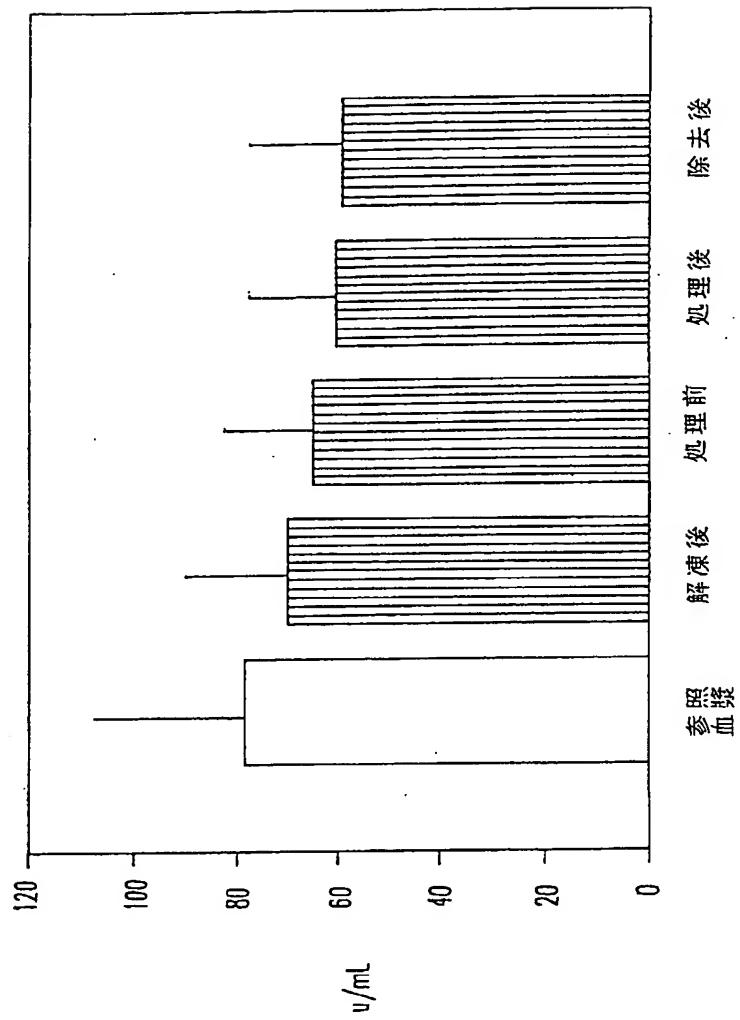
【図4】

FIG. 4



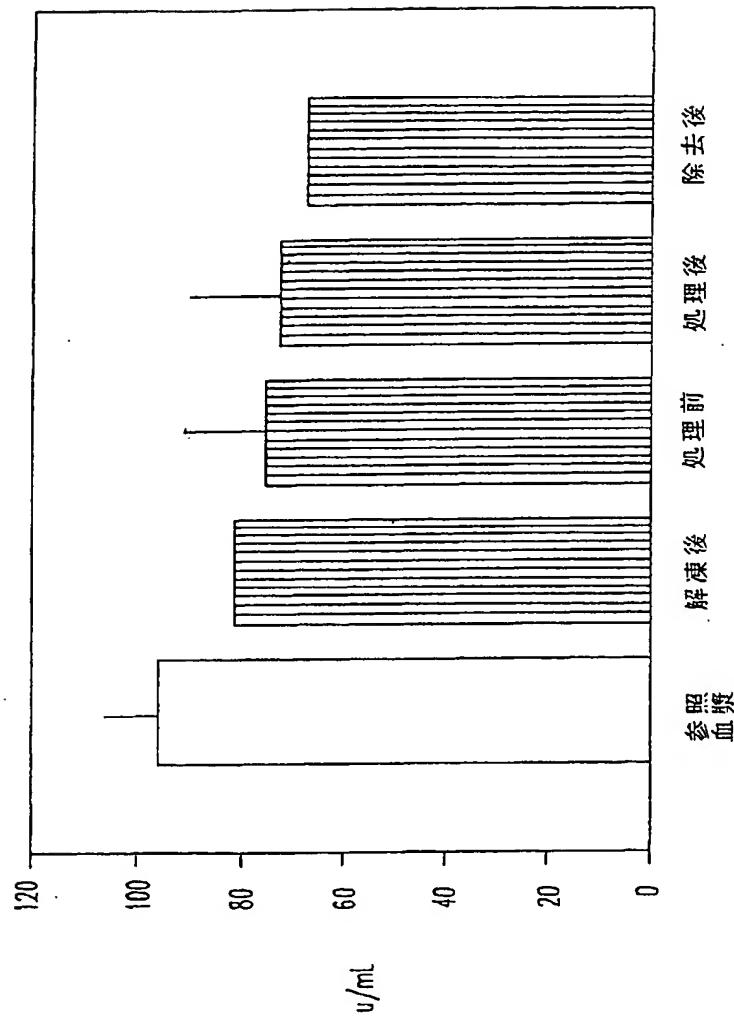
【図 5】

FIG. 5



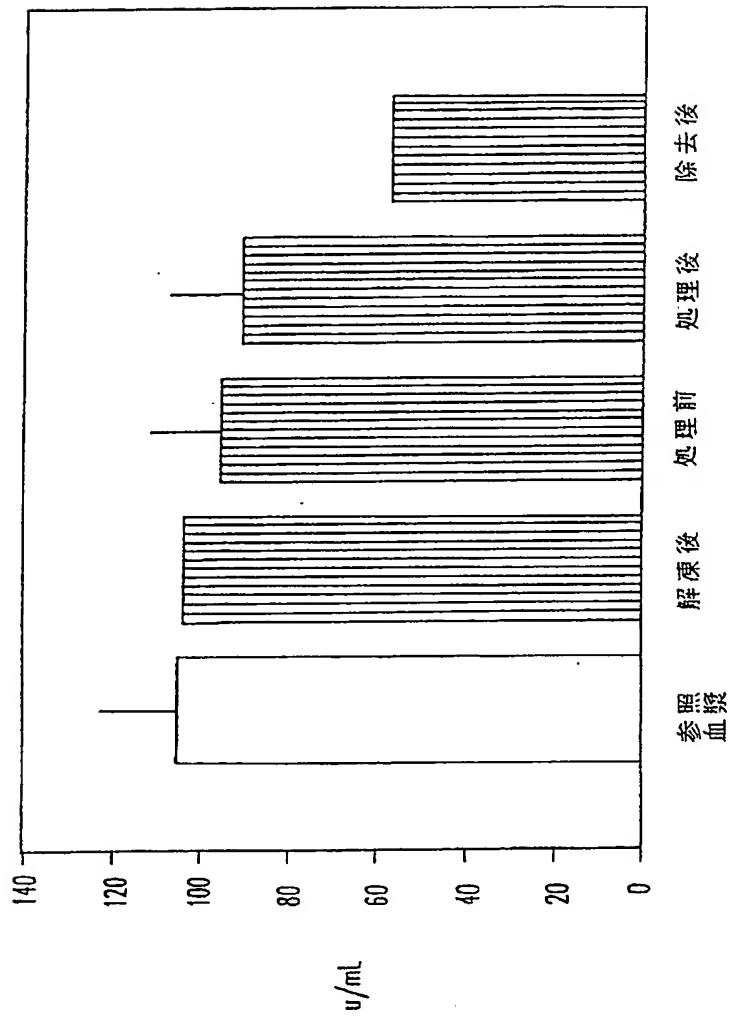
【図 6】

FIG. 6



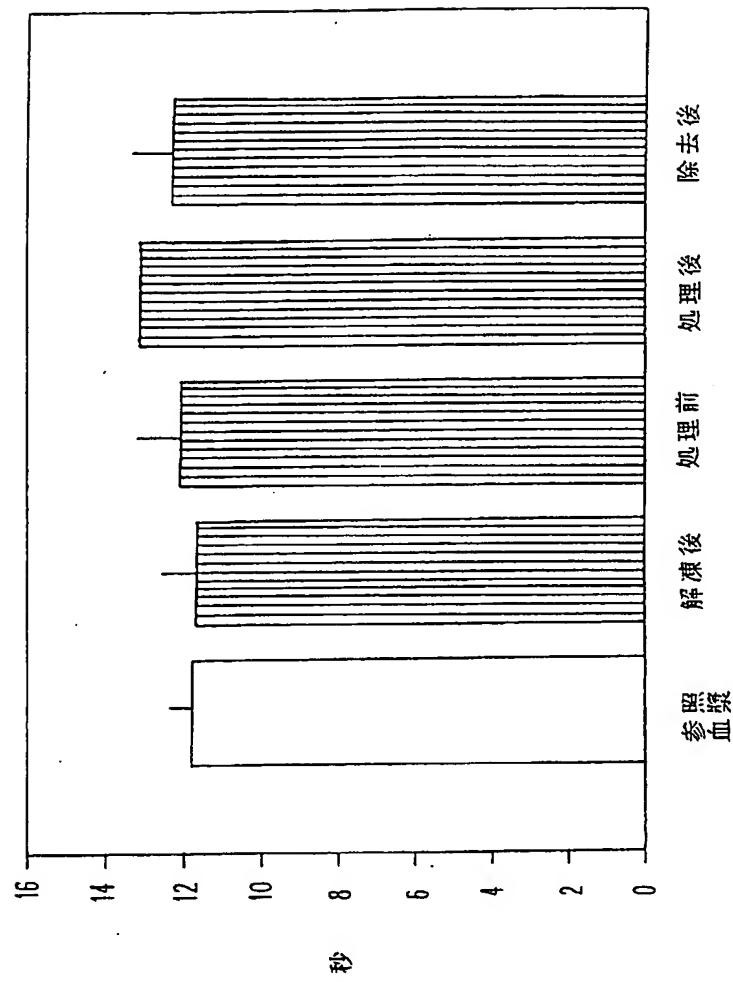
【図 7】

FIG. 7



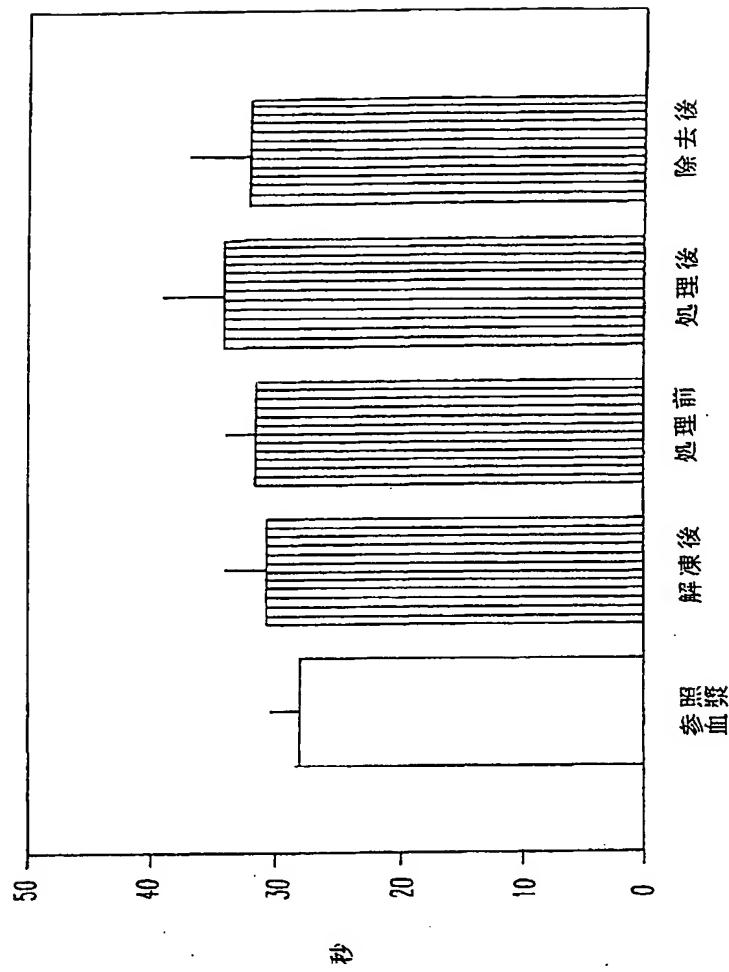
【図 8】

FIG. 8



【図 9】

FIG. 9



## [国際調査報告]

| INTERNATIONAL SEARCH REPORT   |   | International application No.<br>PCT/US94/14227                     |
|---|---|---|
| <b>A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER</b><br>IPC(6) :A01N 1/02; A61K 39/12; A61M 37/00, 5/14; B01D 15/04, 15/08, 61/00<br>US CL :Please See Extra Sheet.<br>According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC  |   |   |
| <b>B. FIELDS SEARCHED</b><br>Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)<br>U.S. : 210/645, 650, 651, 654, 656, 660, 679, 692; 424/89, 90, 529; 435/2; 604/4, 5, 6, 252   |   |   |
| Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched   |   |   |
| Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)<br>APS, Chem Abstracts, Medline, Biosis, Derwent   |   |   |
| <b>C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT</b>   |   |   |
| Category*   | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages  | Relevant to claim No.   |
| Y   | US, A, 4,878,891 (JUDY ET AL.) 07 NOVEMBER 1989, see abstract.  | 1-3, 5-8, 10-12, 14-23, 25-30                                       |
| Y   | Journal of Clinical Microbiology, Volume 17, Number 2, issued February 1983, J. Badylak et al., "Photodynamic Inactivation of Pseudorabies Virus with Methylene Blue Dye, Light, and Electricity," pages 374-376, see page 376. | 1-3, 5-8, 10-12, 14-23, 25-30                                       |
| Y   | US, A, 4,728,432 (SUGIYAMA ET AL.) 01 MARCH 1988, see claims.   | 1-3, 5-8, 10-12, 14-23, 25-30                                       |
| Y   | US, A, 4,190,542 (HODGSON ET AL.) 26 FEBRUARY 1980, see column 2.   | 1-3, 5-8, 10-12, 14-23, 25-30                                       |
| <input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input type="checkbox"/> See patent family annex.  |   |   |
| * Special categories of cited documents:<br>"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance<br>"B" earlier document published on or after the international filing date<br>"C" document which may throw doubt on priority claim(s) or which is used to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)<br>"D" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means<br>"E" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed |   |   |
| Date of the actual completion of the international search<br>20 JANUARY 1995  |   | Date of mailing of the international search report<br>13 FEB 1995   |
| Name and mailing address of the ISA/US<br>Commissioner of Patents and Trademarks<br>Box PCT<br>Washington, D.C. 20231<br>Facsimile No. (703) 305-3230   |   | Authorized officer<br>Ralph Gitomer<br>Telephone No. (703) 308-0196 |

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.  
PCT/US94/14227

## C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

| Category* | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages  | Relevant to claim No. |
|-----------|---|-----------------------|
| Y         | Life Science Research Products Catalog, issued 1993 by Biorad, pages 11-12.   | 4, 9, 13, 24          |
| A,P       | US, A, 5,294,699 (OHMURA ET AL.) 15 MARCH 1994, see entire document.  | 1-30                  |
| A         | US, A, 3,765,536 (ROSENBERG) 16 OCTOBER 1973, see entire document.  | 1-30                  |
| A         | Buletini I Shkencave Mjekesore, Volume 1, issued 1981, Vladimir Gusmari, "The Fractionation and Desalting of Serum Proteins and the Purification of Fluorescent Conjugates by Gel Filtration," pages 75-80, see entire translation. | 1-30                  |

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.  
PCT/US94/14227A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER:  
US CL :

210/645, 650, 651, 654, 656, 660, 679, 692; 424/89, 90, 529; 435/2; 604/4, 5, 6, 252

## フロントページの続き

(51) Int.Cl.6 識別記号 庁内整理番号 F I  
B 0 1 D 61/00 8310-2 J G 0 1 N 33/48  
G 0 1 N 33/48 9455-4 C A 6 1 K 37/02

B